



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Случаи летальной лиссавирусной инфекции у людей после контактов с рукокрылыми на Дальнем Востоке России в 2019–2021 гг.

Полещук Е.М.¹, Тагакова Д.Н.^{1,2}, Сидоров Г.Н.^{1,3}, Орлова Т.С.⁴, Гордейко Н.С.⁵, Кайсаров А.Ж.⁶

¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, г. Омск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, 644099, г. Омск, Россия;

³ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет» Минпросвещения России, 644099, г. Омск, Россия;

⁴ГАУЗ АО «Благовещенская городская клиническая больница», 675000, г. Благовещенск, Россия;

⁵ФКУЗ «Приморская противочумная станция» Роспотребнадзора, 692512, г. Уссурийск, Россия;

⁶ФГБУЗ «Медико-санитарная часть № 100» Федерального медико-биологического агентства России, 692880, г. Фокино, Россия

Введение. На территории России были выявлены четыре вида лиссавирусов (род *Lyssavirus*), представители трёх из них являлись причиной гибели людей.

Цель – охарактеризовать случаи гибели людей после контактов с рукокрылыми на территории Дальнего Востока в 2018–2021 гг. и типировать выделенные патогены.

Материалы и методы. Лиссавирусную инфекцию подтверждали в образцах секционного материала от людей, погибших в Амурской области в 2019 г. и в Приморском крае в 2019 и 2021 гг. Диагностику проводили методом флуоресцирующих антител, Real-time ПЦР, используя диагностикумы отечественного производства. Вирусы выделены в биопробе. Последовательности нуклеопротеина анализировали на уровне 1-го пасажа. Анализ филогенетических отношений и построение дендрограмм выполняли в программе MEGA7.

Результаты. Было установлено, что вирусы, вызвавшие гибель людей в Амурской области и Приморском крае, более чем на 90% идентичны лиссавирусам Иркут (вид *Lyssavirus irkut*), выявленным на территории России и Китая, и образуют с ними отдельный монофилетический кластер со 100%-й бутстреп-поддержкой.

Заключение. На территории России актуален мониторинг популяций летучих мышей на заражённость лиссавирусами. Секционный материал людей, погибших от энцефаломиелита неустановленной этиологии в пределах 10–15 дней от начала болезни, необходимо исследовать на лиссавирусную инфекцию. Требуется разработка ПЦР-тест-систем, включающих родоспецифичные праймеры. Применение молекулярно-биологических методов является перспективным в плане развития диагностики бешенства для совершенствования эпидемиологического надзора и повышения эффективности системы биологической защиты населения Российской Федерации.

Ключевые слова: Россия; лиссавирус бешенства; лиссавирус Иркут; лиссавирусный энцефалит; рукокрылые

Для цитирования: Полещук Е.М., Тагакова Д.Н., Сидоров Г.Н., Орлова Т.С., Гордейко Н.С., Кайсаров А.Ж. Случаи летальной лиссавирусной инфекции у людей после контактов с рукокрылыми на Дальнем Востоке России в 2019–2021 гг. Вопросы вирусологии. 2023; 68(1): 45–58. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>

Для корреспонденции: Полещук Елена Михайловна, канд. биол. наук, заведующая лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, г. Омск, Россия. E-mail: e-poleschuk@yandex.ru

Участие авторов: Полещук Е.М. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, написание текста; Полещук Е.М., Тагакова Д.Н. – сбор и обработка материала, лабораторное исследование; Сидоров Г.Н. – редактирование; Орлова Т.С. – сбор материала, работа над разделами статьи; Гордейко Н.С. – сбор материала, работа над разделами статьи; Кайсаров А.Ж. – сбор материала, работа над разделами статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 2010, July 23). Исследование проводилось при добровольном информированном согласии законных представителей пациентов. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии законных представителей пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (протокол б/н от 27.01.2021).

Поступила 23.12.2022

Принята в печать 20.02.2023

Опубликована 28.02.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>

Lethal cases of lyssavirus encephalitis in humans after contact with bats in the Russian Far East in 2019–2021

Elena M. Poleshchuk¹, Daria N. Tagakova^{1,2}, Gennady N. Sidorov^{1,3}, Tatyana S. Orlova⁴, Natalia S. Gordeiko⁵, Abdukakhhor Zh. Kaisarov⁶

¹Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, 644080, Omsk, Russia;

²Omsk State Medical University, 644099, Omsk, Russia;

³Omsk State Pedagogical University, 644099, Omsk, Russia;

⁴Blagoveshchensk City Clinical Hospital, 675000, Blagoveshchensk, Russia;

⁵Primorye Antiplateau Station, 692512, Ussuriysk, Russia

⁶Medical and sanitary unit No. 100, 692880, Fokino, Russia

Introduction. On the territory of Russia four species of lyssaviruses (genus *Lyssavirus*) were identified, three of them caused human deaths.

The aim of work: to characterize fatal cases in humans after contacts with bats in the Far East in 2018–2021 and to perform typing of isolated pathogens.

Materials and methods. Lyssavirus infection was confirmed in samples of sectional material from people who died in the Amur Region in 2019, in the Primorsky Krai in 2019 and 2021. Diagnostics was performed by fluorescent antibody test (FAT) and RT-PCR using diagnostic kits of domestic production. Viruses were isolated in a bioassay. The nucleoprotein sequences were analyzed after 1st passage. The analysis of phylogenetic relationships and the construction of a dendrogram were performed using the MEGA7 software.

Results. The viruses that caused the fatal cases in humans in the Amur Region and Primorsky Krai share more than 90% identity to *Lyssavirus irkut* detected in Russia and China. Together they form a separate monophyletic cluster with 100% bootstrap support.

Conclusion. On the territory of Russia, monitoring of bat populations for infection with lyssaviruses is relevant. The material of people who died from encephalomyelitis of unknown etiology within 10–15 days from the onset of the disease must be examined for lyssavirus infection. It is necessary to develop PCR assays that employ genus-specific primers. The use of molecular biological methods is promising for improving the diagnosis of rabies and epidemiological surveillance, as well as increasing the efficiency of the system of biological safety of the population of the Russian Federation.

Keywords: Russia; rabies lyssavirus; *Lyssavirus irkut*; lyssavirus encephalitis; chiroptera

For citation: Poleshchuk E.M., Tagakova D.N., Sidorov G.N., Orlova T.S., Gordeiko N.S., Kaisarov A.Zh. Lethal cases of lyssavirus encephalitis in humans after contact with bats in the Russian Far East in 2019–2021. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(1):45-58. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-156>

For correspondence: Elena M. Poleshchuk, Ph.D. (Biol.), Head of Laboratory, Leading Researcher Laboratory of Ecology and Epidemiology of the Rabies, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, 644080, Omsk, Russia. E-mail: e-poleshchuk@yandex.ru

Information about the authors:

Poleshchuk E.M., <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>

Tagakova D.N., <https://orcid.org/0000-0001-9890-1031>

Sidorov G.N., <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>

Orlova T.S., <https://orcid.org/0000-0003-3074-0168>

Gordeiko N.S., <https://orcid.org/0000-0003-2209-2762>

Kaisarov A.Zh., <https://orcid.org/0000-0002-8411-3971>

Contribution: Poleshchuk E.M. – research concept and design; analysis and interpretation of data; writing of the text; Poleshchuk E.M., Tagakova D.N. – collection and processing of the material, performing of the laboratory research; Sidorov G.N. – editing of the article; Orlova T.S. – collection of material, work on the sections of the article; Gordeiko N.S. – collection of material, work on the sections of the article; Kaisarov A.Zh. – collection of material, work on the sections of the article.

Funding. The research was funded by the state budget.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). The study was conducted with the informed consent of legal representatives of patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the of the Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (protocol without number dated Jan 27, 2021).

Received 23 December 2022

Accepted 20 February 2023

Published 28 February 2023

Введение

Лиссавирусы являются широко распространёнными нейротропными РНК-вирусами, поражающими теплокровных животных и человека, вызывая смертельный энцефалит или бешенство (синонимы – гидрофобия, лиссавирусный энцефалит). У человека инфекция проявляется в форме острого энцефаломиелита, как правило, приводящего к смерти в течение 10–15 дней после появления клинических симптомов болезни. Глобальные масштабы распространения лиссавирусов, их высокая патогенность для человека и млекопитающих, практически абсолютная летальность, отсутствие средств лечения развившегося заболевания определяют их первостепенную значимость для здоровья человека и животных [1, 2].

Лиссавирусы объединены в род *Lyssavirus*, относящийся к семейству *Rhabdoviridae*, отряду *Mononegavirales*, который на сегодняшний день включает 17 видов, признанных Международным комитетом по таксономии [3]:

- *Lyssavirus rabies* (rabies virus, RABV);
- *Lyssavirus lagos* (Lagos bat virus, LBV);
- *Lyssavirus mokola* (Mokola virus, MOKV);
- *Lyssavirus duvenhage* (Duvenhage virus, DUVV);
- *Lyssavirus hamburg* (European bat 1 lyssavirus, EBLV-1);
- *Lyssavirus helsinki* (European bat 2 lyssavirus, EBLV-2);
- *Lyssavirus australis* (Australian bat lyssavirus, ABLV);
- *Lyssavirus irkut* (Irkut virus, IRKV);
- *Lyssavirus caucasicus* (West Caucasian bat virus, WCBV);
- *Lyssavirus khujand* (Khujand virus, KHUV);
- *Lyssavirus aravan* (Aravan virus, ARAV);
- *Lyssavirus shimoni* (Shimoni bat virus, SHIBV);
- *Lyssavirus bokeloh* (Bokeloh bat lyssavirus, BBLV);
- *Lyssavirus ikoma* (Ikoma lyssavirus, IKOV);
- *Lyssavirus lleida* (Lleida bat lyssavirus, LLEBV);
- *Lyssavirus gannoruwa* (Gannoruwa bat lyssavirus, GBLV);
- *Lyssavirus formosa* (Taiwan bat lyssavirus, TBLV).

Ещё один вирус ожидает подтверждения статуса вида – *Kotalahti bat lyssavirus* (KBLV) [3]. К началу 2023 г. из 17 утверждённых видов 15 были обнаружены у рукокрылых. Только два лиссавируса (*Lyssavirus mokola* и *Lyssavirus ikoma*) пока не найдены среди представителей указанного отряда [4–7].

Рукокрылые являются важнейшим резервуаром лиссавирусов. Их разнообразие и глобальное распространение определяет биологическое разнообразие патогенов, а целенаправленное изучение позволяет обнаруживать их новые виды. За последние 20 лет 8 новых видов были открыты в Европе, Азии, Африке. Гибель людей зафиксирована от 7 видов: RABV – около 60 000 случаев в год при заражении от наземных млекопитающих и 2–3 случая в год при заражении от летучих мышей в Северной Америке; EBLV-1 – 2 случая; EBLV-2 – 2 случая,

ABLV – 3 случая, DUVV – 3 случая, IRKV – 1 случай, MOKV – 2 случая) [8–13].

Самым широко распространённым видом как в географическом плане, так и с точки зрения видового разнообразия поражаемых и поддерживающих циркуляцию патогена млекопитающих является лиссавирус бешенства (*Lyssavirus rabies*). Он циркулирует в популяциях наземных млекопитающих, главным образом хищных (отряд *Carnivora*), по всему миру и в популяциях рукокрылых (отряд *Chiroptera*) в Северной и Южной Америке. *Lyssavirus rabies* является причиной подавляющего большинства случаев гибели человека и животных. Другие виды лиссавирусов встречаются только за пределами Америки, по-видимому, более ограничены географически и имеют узкий круг хозяев. В Европе, включая европейскую часть России, кроме лиссавируса бешенства были выявлены ещё 5 видов лиссавирусов, в Африке – 6, в Австралии – 1, в Азии, включая территорию России, – 5 [7, 11, 12, 14].

В природных очагах России повсеместно циркулирует лиссавирус бешенства [15, 16], преимущественно в популяциях диких псовых (семейство *Canidae*) – лисиц, корсаков, енотовидных собак, волков, песцов [17–21].

У рукокрылых России известны находки лиссавируса Иркут (*Lyssavirus irkut*) в 2002 г. у трубконоса большого (*Murina leucogaster*) в Иркутской области и лиссавируса западно-кавказских летучих мышей (*Lyssavirus caucasicus*), выделенного от длинокрыла обыкновенного (*Miniopterus schreibersii*) из Краснодарского края [22, 23].

Случаи гидрофобии, описанные в стране с 1534 по 2018 г., в подавляющем большинстве были связаны с контактами с дикими и домашними хищниками (собака, кошка, волк, лисица, енотовидная собака и др.) [24]. Молекулярно-генетическое типирование вирусов, выделенных от погибших после контактов с этими животными, выявило их принадлежность виду *Lyssavirus rabies* [15, 25, 26].

Исключением являлись два задокументированных случая гибели людей, связанных с нападением летучих мышей. Первый случай был зафиксирован в 1985 г. в Белгородской области. От погибшей 11-летней девочки был выделен лиссавирус европейских летучих мышей I типа, современное название которого – лиссавирус Гамбург (*Lyssavirus hamburg*) [3]. Работа с этим лиссавирусом, штаммом Юли (Rabies-related Yuli virus), после его выделения профессором М.А. Селимовым [27] параллельно проводилась в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского под руководством доктора медицинских наук С.В. Грибенча. Второй случай был выявлен в 2007 г. от погибшей в Приморском крае 20-летней девушки; тогда выделили лиссавирус Озёрное – аналог вируса Иркут [28].

Гибель людей после укусов рукокрылыми на территории России фиксировали ещё дважды. В этих случаях лиссавирусы не были идентифицированы до вида, а гибель от лиссавирусной инфекции установлена по клинико-эпидемиологическим данным. Первый, самый ранний по времени регистрации случай смерти человека, был отмечен в 1977 г. в Ворошиловграде

(ныне Луганск, Луганская Народная Республика РФ), когда летучая мышь укусила девочку 15 лет [29]. Второй случай был выявлен в 2002 г. в Молодогвардейске (Луганская Народная Республика РФ): летучая мышь укусила мужчину 34 лет [30].

Таким образом, из выявленных на территории России 4 видов лиссавирусов – *Lyssavirus rabies*, *Lyssavirus hamburg*, *Lyssavirus irkut*, *Lyssavirus caucasicus* – представители первых трёх являлись причиной гибели людей. Три последних были выделены от летучих мышей: *Lyssavirus hamburg* только на территории Европы, *Lyssavirus irkut* – на территории России и Китая, *Lyssavirus caucasicus* – на территории России и в Африке [12, 31, 32]. В период 1977–2007 гг. гибель людей после укусов рукокрылыми была установлена 4 раза.

В 2018–2021 гг. в Дальневосточном регионе России были зафиксированы три новых анализируемых в этой работе случая лиссавирусной инфекции у человека после контактов с летучими мышами.

Цель – охарактеризовать случаи гибели людей после контактов с рукокрылыми на территории Дальнего Востока в 2018–2021 гг. и типировать выделенные патогены.

Материалы и методы

Лиссавирусную инфекцию подтверждали в образцах секционного материала от людей, погибших в Амурской области (Благовещенск) в июне 2019 г., в Приморском крае в сентябре 2019 г. (Фокино) и в августе 2021 г. (с. Заветное). По клинико-эпидемиологическим данным в двух первых случаях был диагностирован энцефалит неустановленного генеза (менингоэнцефалит неясной этиологии, вирусный энцефалит неуточнённый), в последнем – острый энцефалит лиссавирусной этиологии, тяжёлое течение.

Специфический антиген вируса бешенства выявляли методом флуоресцирующих антител [33] с использованием поликлонального антирабического иммуноглобулина, меченного флуоресцеин-5-изотиоцианатом (ФИТЦ-иммуноглобулин) производства ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт здоровья животных» (ВНИИЗЖ).

Выделение вирусов Rus(Amur)8947H_2019, Rus(Primorsky)8949H_2019 и Rus(Primorsky)9220H_2021 выполнено в ходе биопробы на беспородных белых мышках массой 8–12 г путём интрацеребральной инокуляции 0,03 мл 10% суспензии головного мозга погибших людей, приготовленной на растворе Хенкса [34]. Специфическую гибель мышей от рабдовируса подтверждали обнаружением его антигена методом флуоресцирующих антител в отпечатках головного мозга животных. Инфекционную активность вирусов в нативном материале, а также на уровне 2-го и 4-го пассажа определяли путём интрацеребральной инокуляции 0,03 мл суспензий головного мозга погибших людей, 10-кратно раститрованных на растворе Хенкса от 10^{-1} до 10^{-7} . Расчёт титра вируса проводили по Reed и Munch [35]. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal

Use (IAVES, July 23, 2010). Исследование проводилось при добровольном информированном согласии законных представителей пациентов. Исследования одобрены Этическим комитетом ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора (протокол б/н от 27.01.2021).

Real-time ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) проводили с наборами реагентов для выявления РНК вируса бешенства от ООО «Синтол» (Москва) и ООО «Фрактал Био» (Санкт-Петербург) на амплификаторе Rotor-Gene 6000.

Суммарную вирусную РНК выделяли из головного мозга мышей, погибших в ходе 1-го пассажа, с использованием реагента TRIzol Reagent (Invitrogen Life Technologies, США) в соответствии с инструкцией производителя. ОТ-ПЦР и получение кДНК (комплементарной) проводили с использованием случайных гексануклеотидных праймеров в составе набора для реверсии «Реверта-L» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва).

Для определения первичной нуклеотидной последовательности фрагмента гена нуклеопротеина амплифицировали перекрывающиеся фрагменты [36]. Для получения ПЦР-фрагментов выделенных вирусов Rus(Amur)8947H_2019, Rus(Primorsky)8949H_2019, Rus(Primorsky)9220H_2021 использовали пары праймеров, описанные ранее P.R. Heaton и соавт. [37] для гена, кодирующего нуклеопротеин: JW12-JW6 (DPL), JW6 (M), JW6 (E), а затем f1 и r1, описанные Y. Liu и соавт. [38]. Амплификацию проводили на амплификаторе Axygen MaxyGene II Thermal Cycler (Axygen Scientific Inc., США).

Наличие ПЦР-продукта необходимой длины контролировали электрофоретическим методом в 1,5% агарозном геле ($1 \times$ ТАЕ (трис-ацетатный буфер)) с добавлением бромистого этидия. Очистку ПЦР-продуктов и их концентрацию осуществляли с использованием магнитных частиц Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Очищенный ПЦР-продукт секвенировали, используя вышеуказанные пары праймеров и набор реагентов BigDye™ Terminator v1.1. Cycle Sequencing Kit, с последующим анализом продуктов реакции на генетическом анализаторе SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Структуру полученных хроматограмм анализировали с помощью компьютерной программы Chromas 2.6.6.0 (Technelysium Pty Ltd, Австралия). Полученные фрагменты генома вирусов выравнивали в BioEdit 7.0.5.3 (Inform Technology, Inc., США). Длина полученных продуктов амплификации фрагментов генов нуклеопротеина лиссавирусов составила 1258 н.о. (позиция генома – 71-1328 относительно Reference Sequence NC_001542.1).

Поиск идентичности нуклеотидов полученных сиквенсов выполняли с помощью программы BLASTN 2.12.0+ в базе данных NCBI¹.

¹Standard Nucleotide BLAST. Available at: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_SPEC=GeoBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch.

Анализ филогенетических отношений полученных последовательностей нуклеопротеина и построение дендрограмм выполняли в программе MEGA7 [39] с применением алгоритма Neighbor-Joining, используя депонированные последовательности фрагментов гена *N* из электронной базы данных GenBank ($n = 51$).

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами, используя Microsoft Office Excel 2016.

Результаты

Территория России характеризуется наличием природных очагов бешенства, в которых циркуляцию вируса поддерживают дикие хищники преимущественно семейства псовых (*Canidae*) [18, 21]. Однако с 2019 г. стала наблюдаться нетипичная для России картина: за три года было выявлено три случая гибели людей после укусов рукокрылыми – все на территории Дальнего Востока.

Первый пострадавший от рукокрылых – работающий мужчина 36 лет. В мае 2019 г. он находился на даче в Благовещенске Амурской области. При надевании рабочей рукавицы был дважды укушен в безмянный палец левой руки оказавшимся там рукокрылым. Отмечалось небольшое кровотечение. Пострадавший самостоятельно обработал раны, за медицинской помощью не обращался. Заболевание начало развиваться на 21-й день после укуса. Кома развилась на 10-й день заболевания. Смерть наступила на 15-й день болезни.

Второй пострадавший – пенсионер 73 лет. Подвергся нападению летучей мыши в г. Фокино Приморского края в конце августа 2019 г. Мужчина работал в гараже. Рукокрылое напало и нанесло укус в шею. За медицинской помощью не обращался. Инкубационный период составил около 15 суток. На 2-е сутки заболевания наступила смерть.

Третий пострадавший – работающий мужчина 35 лет. Находясь на реке в с. Заветное Чугуевского района Приморского края в середине июня 2021 г.,

был укушен летучей мышью за верхнюю губу. Рану обработал самостоятельно, за медицинской помощью не обращался. Заболел на 52-й день после укуса. Кома зафиксирована на 5-е сутки болезни. Смерть наступила на 8-е сутки.

У всех пострадавших заболевание развивалось по типу менингоэнцефалита, осложнённого гипертермическим синдромом (до 39–40, 39 и 37,2 °С соответственно), интоксикацией, судорожным синдромом, нарушением речи, сознания с выраженной сердечно-сосудистой, дыхательной и церебральной недостаточностью. Во всех случаях зафиксирован отёк мозга. В первом случае отметили отёк лёгких и двустороннюю пневмонию, в третьем – выраженные генерализованные миоклонии, опсиклонус, миоклоническую ретракцию век, бульбарный синдром, тетрапарез, тромбоз центральных вен сетчатки обоих глаз, кератоконъюнктивит. В первом случае исключали отравление суррогатами алкоголя и пневмонию, в третьем – ишемический инсульт.

Особенности случаев лиссавирусной инфекции у пострадавших после укусов летучими мышами в Дальневосточном регионе обобщены в табл. 1. Виды рукокрылых, явившиеся источниками заражения в описываемых случаях, не установлены.

Материал от погибших был доставлен в референс-центр по мониторингу за бешенством, действующий на базе ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора в соответствии с Приказом Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116. Необходимо отметить, что благодаря бдительности медицинских специалистов и наличию референс-центра на эти случаи обратили внимание специалисты и удалось расшифровать этиологию инфекции.

Для исследования материала в ПЦР-реакции формата Real-time использовали набор реактивов для выявления РНК вируса бешенства от ООО «Синтол» (Москва), зарегистрированный для использования в медицинских целях. Тест-система проводит детекцию специфиче-

Таблица 1. Особенности случаев лиссавирусной инфекции у пострадавших после укусов летучими мышами в Дальневосточном регионе в 2019 и 2021 гг.

Table 1. Features of cases of lyssavirus infection in victims of bat bites in the Far East region in 2019 and 2021

Дата контакта с источником инфекции Date of contact with source of infection	Пол, возраст Sex, age	Регион Region	Инкубационный период Incubation period	Клинический период Clinical period	Своевременное обращение за медицинской помощью Timely appeal for medical help
Середина мая 2019 г. Mid May 2019	Мужчина, 36 лет Male, 36 years	Амурская область, Благовещенск Amur region Blagoveshchensk	21 дней 21 days	15 дней 15 days	Не обращался Did not apply
Конец августа 2019 г. End of August 2019	Мужчина, 73 года Male, 73 years	Приморский край, ГО ЗАТО Фокино Primorsky Krai Fokino	Около 15 дней About 15 days	2 дня 2 days	Не обращался Did not apply
Середина июня 2021 г. Mid June 2021	Мужчина, 35 лет Male, 35 years	Приморский край, Чугуевский район, с. Заветное Primorsky Krai, Chuguevsky District, Zavetnoe village	52 дня 52 days	8 дней 8 days	Не обращался Did not apply

ской РНК лиссавируса бешенства (вид *Lyssavirus rabies* – классический вирус бешенства) по двум каналам – Yellow и Orange. Регистрация роста сигнала по одному из каналов свидетельствует о наличии в образце специфических фрагментов РНК генома указанного патогена.

Материал от людей, погибших после укуса рукокрылых, тестировали параллельно с положительными образцами, принадлежащими диким хищным животным.

В образцах от всех погибших людей положительный сигнал, свидетельствующий о наличии в секционном материале возбудителя бешенства, был получен по каналу Yellow (рис. 1 а, б, в). Наличие патогенов в образцах от наземных диких хищников традиционно регистрировали положительно по каналу Orange (рис. 1 г).

С помощью тест-системы от ООО «Фрактал Био», зарегистрированной для ветеринарных целей, которая адаптирована для выявления классического лиссавируса бешенства, специфической РНК лиссави-

русов в образцах от людей не выявили, тогда как все образцы от хищников прошли положительно.

Опираясь на известные данные, согласно которым в популяциях наземных хищных циркулирует классический лиссавирус бешенства, предположили, что выявленный с помощью тест-системы от ООО «Синтол» возбудитель лиссавирусной инфекции может относиться к отличному от классического виду лиссавирусов, а также что патогены могут относиться к филогруппе I, общей с классическим лиссавирусом.

В отпечатках головного мозга, приготовленных с секционного материала погибших, в реакции иммунофлуоресценции с поликлональным антирабическим иммуноглобулином производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» был обнаружен специфический антиген вируса бешенства (рис. 2). Интенсивность специфического свечения двух образцов (рис. 2 а, в) была оценена на 4 балла (чётко видимое жёлто-зелёное свечение), ещё одного (рис. 2 б) – на 2 балла.

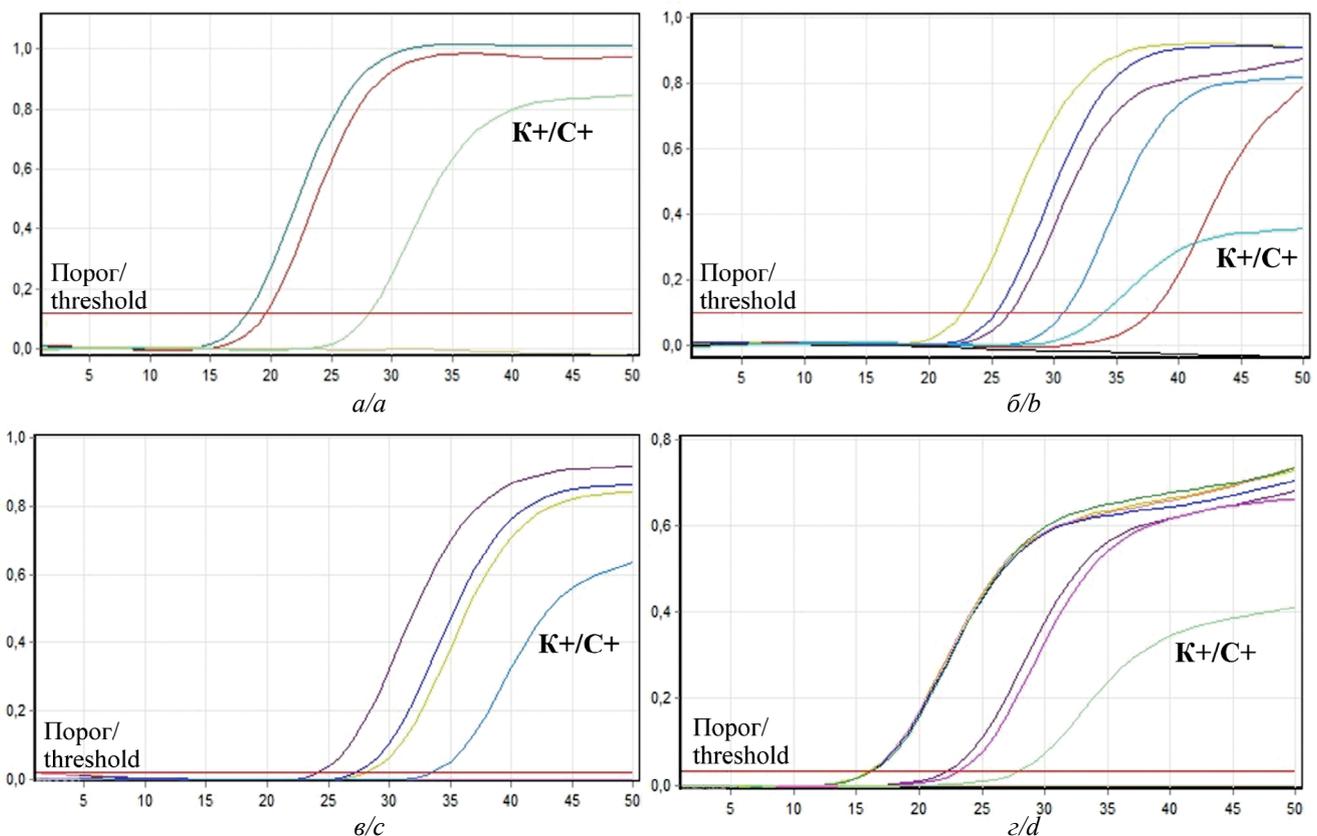


Рис. 1. Результаты диагностики образцов от людей, погибших после укусов рукокрылыми, и материала от диких хищников в ПЦР Real-time с набором реагентов для выявления РНК вируса бешенства от ООО «Синтол» по каналам детекции специфики: Yellow: а – человек, Амурская область, 2019 г.; б – человек, Приморский край, 2019 г.; в – человек, Приморский край, 2021 г. и Orange: г – хищные млекопитающие, Амурская область, 2019 г. Кривые на иллюстрациях а, б, в, г соответствуют положительным реакциям для образцов биоматериала. К+ – положительный контроль реакции. По оси X указана нормальная флюоресценция. По оси Y указано количество циклов.

Fig. 1. Results of testing of samples from people who died after being bitten by bats and material of wild carnivores in the Real-time PCR reaction with a set of reagents for the detection of rabies virus RNA from Syntol LLC using specific detection channels: Yellow: а – human, Amurskaya region, 2019; б – human, Primorsky Krai, 2019; в – human, Primorsky Krai, 2021 and Orange: г – samples of wild carnivores, Amur Region, 2019. In illustrations а, б, в, г curves are to positive reactions for biomaterial samples. C+ – positive reaction control. The X-axis indicates normal fluorescence. The Y-axis indicates the number of cycles.

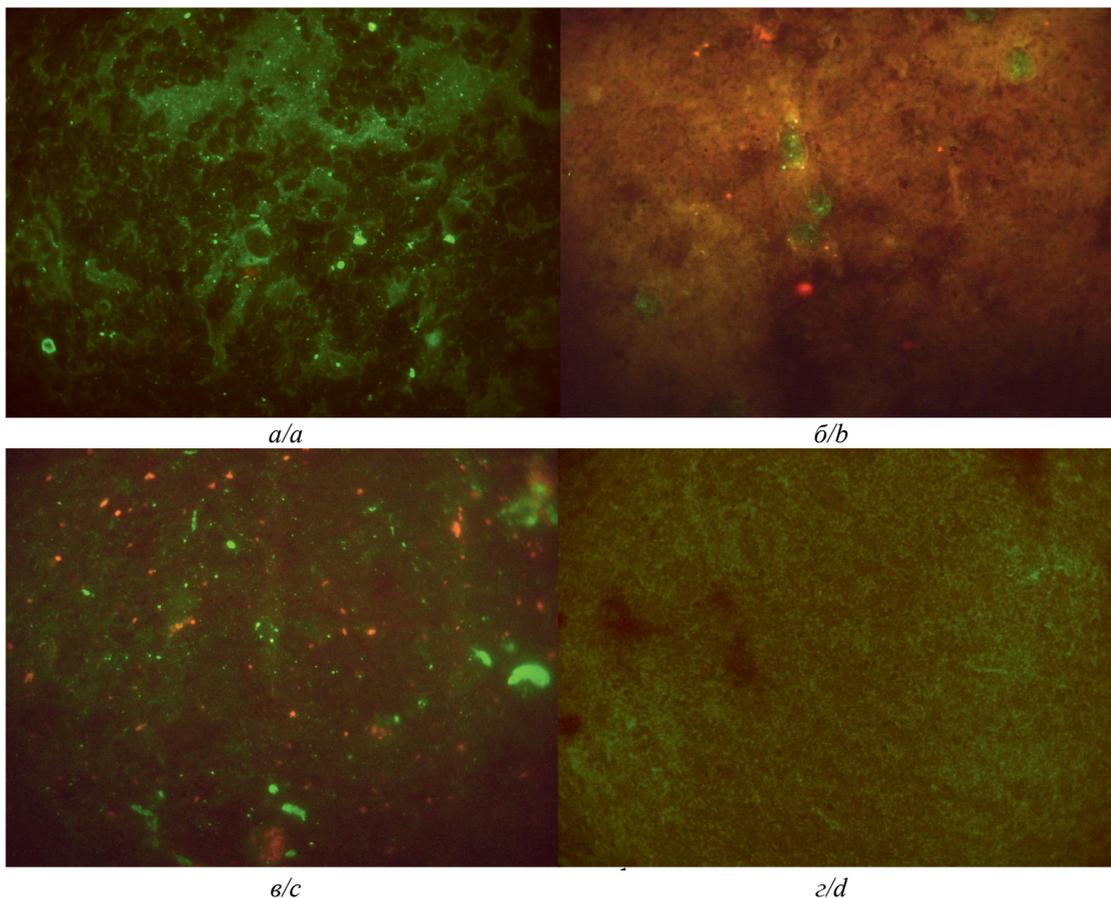


Рис. 2. Специфическая иммунофлуоресценция антигена лиссавируса бешенства в отпечатках головного мозга, полученная методом флуоресцирующих антител с использованием поликлонального Ig (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Отпечатки сделаны с первичного материала (головной мозг): *a* – человек, Амурская область, 2019 г.; *б* – человек, Приморский край, 2019 г.; *в* – человек, Приморский край, 2021 г.; *з* – здоровые белые мыши. Микроскоп Olympus CX41, окуляр $\times 10$, объектив $\times 100$, система документирования DP 72, масляная иммерсия.

Fig. 2. Specific immunofluorescence of rabies lyssavirus antigen in brain imprints obtained during MFA using polyclonal Ig (FGBI “Federal Centre for Animal Health”). The prints were made from primary material (brain): *a* – human, Amur Region, 2019; *b* – human, Primorsky Territory, 2019; *c* – human, Primorsky Territory, 2021; *d* – healthy white mice. Olympus CX41 microscope, $\times 10$ eyepiece, $\times 100$ objective, DP 72 documentation system, oil immersion.

В ходе биопробы на беспородных белых мышах путём их интрацеребрального заражения выделили вирусы, обозначенные Rus(Amur)_8947H_2019, Rus(Primorsky)8949H_2019 и Rus(Primorsky)9220H_2021. Инкубационный период для изолята Rus(Amur)_8947H_2019 составил 10–13 дней (в среднем $11,5 \pm 0,3$), для Rus(Primorsky)_8949H_2019 – 7–10 дней (в среднем $8,6 \pm 0,7$), для Rus(Primorsky)_9220H_2021 – 6–8 дней (в среднем $7,1 \pm 0,1$) (табл. 2).

Все животные, заражённые первичным материалом, заболели с типичными клиническими признаками, из которых преобладали параличи, парезы. Наблюдались вялость, слабость, судороги, снижение активности, подвижности. Гибель животных наступала в течение суток. Гибель мышей от лиссавирусной инфекции подтверждали путём обнаружения специфического антигена в отпечатках, приготовленных с головного мозга животных, павших либо умерщвлённых на высоте клинических признаков.

Для выделенных вирусов провели пассаж на беспородных белых мышах массой 8–12 г. На уровне 3-го пассажа инкубационный период для возбудителей Rus(Amur)8947H_2019 и Rus(Primorsky)8949H_2019 сократился до 5 дней, для Rus(Primorsky)9220H_2021 – до 4–5 дней. Титр вируса Rus(Amur)8947H_2019, составивший в первичном материале $4,4 \lg LD50_{0,03}$, на уровне 4-го пассажа составил $4,7 \lg LD50_{0,03}$. Для вируса Rus(Primorsky)8949H_2019 инфекционная активность соответственно составила $4,6 \lg LD50_{0,03}$ в первичном материале и $5,6 \lg LD50_{0,03}$ – на уровне 6-го пассажа. Титр вируса Rus(Primorsky)9220H_2021 в первичном материале составил $4,3 \lg LD50_{0,03}$, на уровне 4-го пассажа – $5,4 \lg LD50_{0,03}$ (табл. 2).

В ходе ПЦР и секвенирования для изолятов Rus(Amur)8947H_2019, Rus(Primorsky)8949H_2019 и Rus(Primorsky)9220H_2021 получили фрагменты последовательностей генов нуклеопротеина, длина которых составила 1258 н.о. (номера в GenBank: OQ377548 – OQ377550).

Таблица 2. Характеристика выделенных лиссавирусов, вызвавших гибель людей после укусов рукокрылыми

Table 2. Characteristics of the isolated lyssaviruses that caused the death of people after being bitten by bats

Характеристика Characteristics	Rus(Amur)8947H_2019	Rus(Primorsky)8949H_2019	Rus(Primorsky) 9220H_2021
Инкубационный период при 1 заражении Incubation period at 1 infection	10–13 дней (в среднем 11,5) 10–13 days (mean 11.5)	7–10 дней (в среднем 8,6) 7–10 days (mean 8.6)	6–8 дней (в среднем 7,1) 6–8 days (mean 7.1)
Инкубационный период на 3-м пассаже Incubation period at passage 3	5 дней 5 days	5 дней 5 days	4–5 дней 4–5 days
Инкубационный период на 5-м пассаже Incubation period at passage 5	4–5 дней 4–5 days	4–5 дней 4–5 days	4–6 дней 4–6 days
Титр вируса в первичном материале Virus titer in primary material	4,4 lg LD50 _{0,03}	4,6 lg LD50 _{0,03}	4,3 lg LD50 _{0,03}
Титр вируса на уровне Virus titer at the level	4-го пассажа passage 4 4,7 lg LD50 _{0,03}	6-го пассажа passage 6 5,6 lg LD50 _{0,03}	4-го пассажа passage 4 5,4 lg LD50 _{0,03}

Таблица 3. Поиск идентичности нуклеотидов полученных сиквенсов с помощью BLASTN 2.12.0+

Table 3. Search for nucleotide identity of obtained sequences using BLASTN 2.12.0+

Вирусы Viruses	Доля идентичности фрагментов генома нуклеопротеина (1258 н.о., позиция 71-1328 относительно RefSeq NC_001542.1), % Identity of nucleoprotein genome fragments (1258 n.p., position 71-1328 relative to RefSeq NC_001542.1), %		
	Rus(Amur)_8947H_2019	Rus(Primorsky)_8949H_2019	Rus(Primorsky)_9220H_2021
Лиссавирусы Иркут (IRKV) Irkut lyssaviruses (IRKV)			
1 Ozernoe, 2007	98,17	99,68	99,13
2 THChina12, 2012	98,17	98,89	98,97
3 FX17, 2017 г.	98,01	98,73	98,81
4 Irkut (NCBI RefSeq), 2002	93,15	92,83	92,75
<i>Lyssavirus hamburg</i> (EBLV-1, изолят 13424, Испания, 1989) (EBLV-1, isolate 13424, Spain, 1989)	79,16	79,08	79,28
Лиссавирусы бешенства (RABV) Rabies lyssaviruses (RABV)	77,24–76,75	77,64–77,24	77,53–77,04

С помощью программы BLASTN 2.12.0+ было установлено, что последовательности вирусов Rus(Amur)_8947H_2019, Rus(Primorsky)_8949H_2019 и Rus(Primorsky)_9220H_2021 идентичны лиссавирусам Иркут: вирусу Озёрное, выделенному от человека, погибшего в 2007 г. в Приморском крае, – на 98,17–99,68%; вирусу IRKV-THChina12, выделенному в 2012 г. от летучей мыши в Китае (уезд Тунхуа, провинция Гири), – на 98,17–98,97%; вирусу FX17, выделенному в 2017 г. от собаки в Китае (городской округ Фусинь), – на 98,01–98,81%; вирусу Иркут, выделенному от летучей мыши в 2002 г. в Иркутске, – на 92,75–93,15% (табл. 3).

Сходство с лиссавирусом Гамбург (EBLV-1, изолят 13424, Испания, 1989 г.) составило 79,08–79,28%, с лиссавирусами классического бешенства – 76,75–77,64% (табл. 3).

Было установлено, что вирусы, вызвавшие гибель людей в Амурской области и Приморском крае, образуют отдельный монофилетический кластер с лиссавирусами, относящимися к виду Иркут со 100%-й бутстреп-поддержкой (рис. 3).

Обсуждение

У описываемых трёх погибших типичной клинической картины бешенства (гидрофобии, аэрофобии, фотофобии), позволяющей без труда констатировать лиссавирусную этиологию энцефалита, не отмечали. С учётом нарастания тяжести заболевания на основании клинико-эпидемиологических данных был установлен диагноз «вирусный энцефалит неуточнённый», а в двух случаях на основании эпиданамнеза предположили энцефалит лиссавирусной этиологии.

Непохожий по клиническим проявлениям случай гибели 45-летней женщины зафиксировали в 2020 г. в Завитинске Амурской области после укуса собакой. Из-за неправильного отбора материала случай лабораторно не подтверждён. Но выраженная гидрофобия, аэрофобия, фотофобия, гипертермия, гиперсаливация, агрессия, наличие в анамнезе укуса собакой позволили констатировать гибель пострадавшей от бешенства по клинико-эпидемиологическим данным.

Важно помнить, что контакт с рукокрылым может пройти незамеченным для человека, и данные о нём могут отсутствовать в эпиданамнезе. Инфекция,

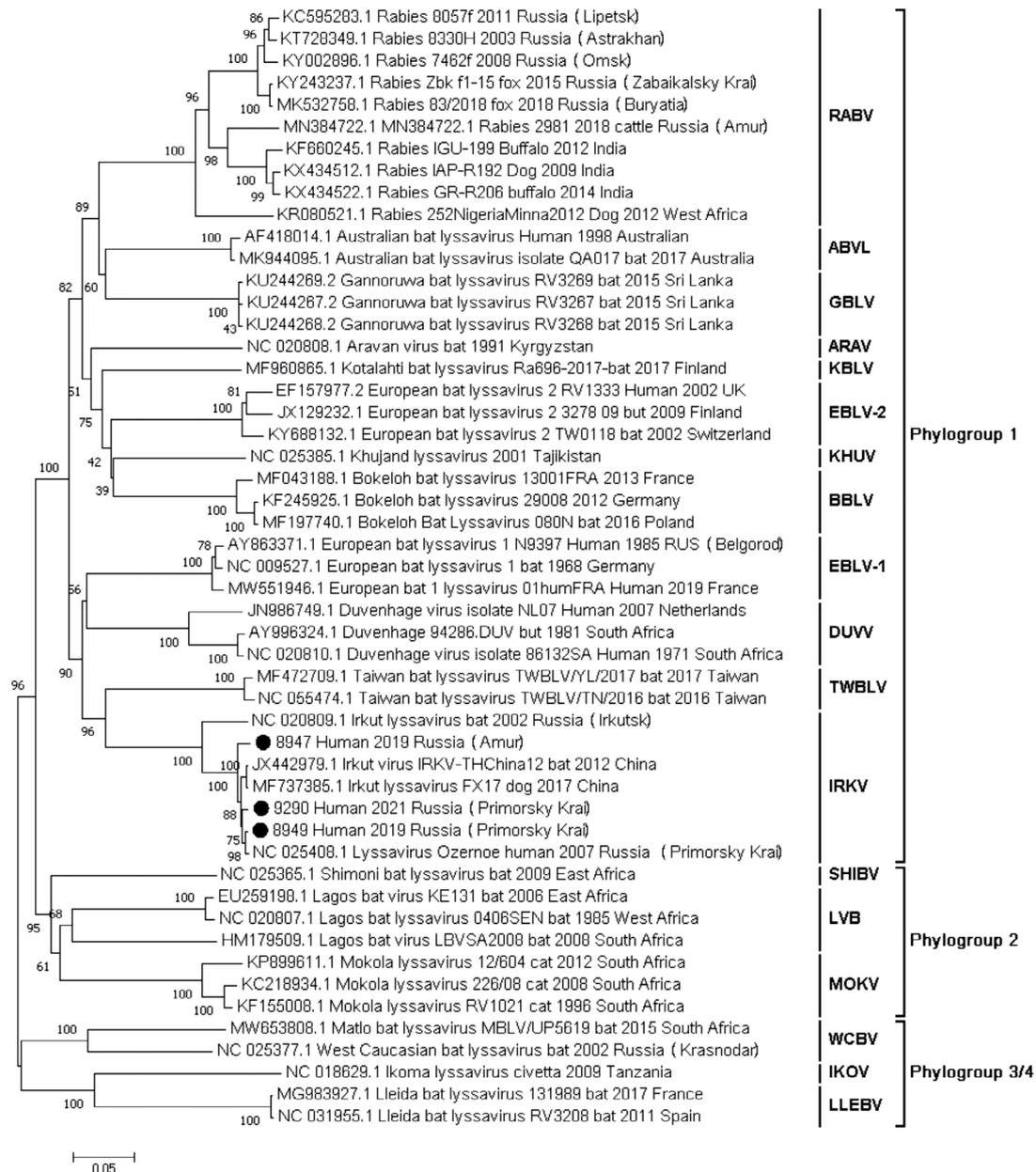


Рис. 3. Филогенетическая дендрограмма, полученная методом Neighbor-Joining для 51-го изолята лиссавирусов известных видов на основании выравнивания последовательностей гена нуклеопротеина (*N*, 1258 н.о.). В узлах указана доля дублирующих деревьев (бутстреп-поддержка, %), в которых ассоциированные таксоны сгруппированы вместе в бутстреп-тесте (1000 повторов). Значения показателей бутстреп-поддержки отражают устойчивость топологии дендрограммы и достоверны при значениях > 70%. Анализ выполнен в MEGA7.

Fig. 3. Phylogenetic dendrogram obtained by the Neighbor-Joining method for 51 isolates of lyssaviruses of known species based on the alignment of the nucleoprotein gene sequences (*N*, 1258 bp). The nodes indicate the percentage of duplicate trees (bootstrap support, %) in which associated taxa are grouped together in the bootstrap test (1000 repetitions). The values of the bootstrap support indicators reflect the stability of the topology of the dendrogram and are significant at values > 70%. The analysis was performed in MEGA7 software.

связанная с лиссавирусами, отличными от классического бешенства, может протекать без типичных клинических признаков. Имеются сообщения об атипичной симптоматике бешенства у человека, связанной с укусами рукокрылых (Всемирная организация здравоохранения, 2018), что затрудняет постановку диагноза. В связи с этим в случае смерти человека от острого энцефаломиелита неустановленной этио-

логии в пределах 10–15 дней от начала болезни, настоятельно рекомендуется проводить исследование секционного материала на лиссавирусную инфекцию. В СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (раздел XXII) нами актуализированы правила по профилактике бешенства и определена необходимость таких исследований.

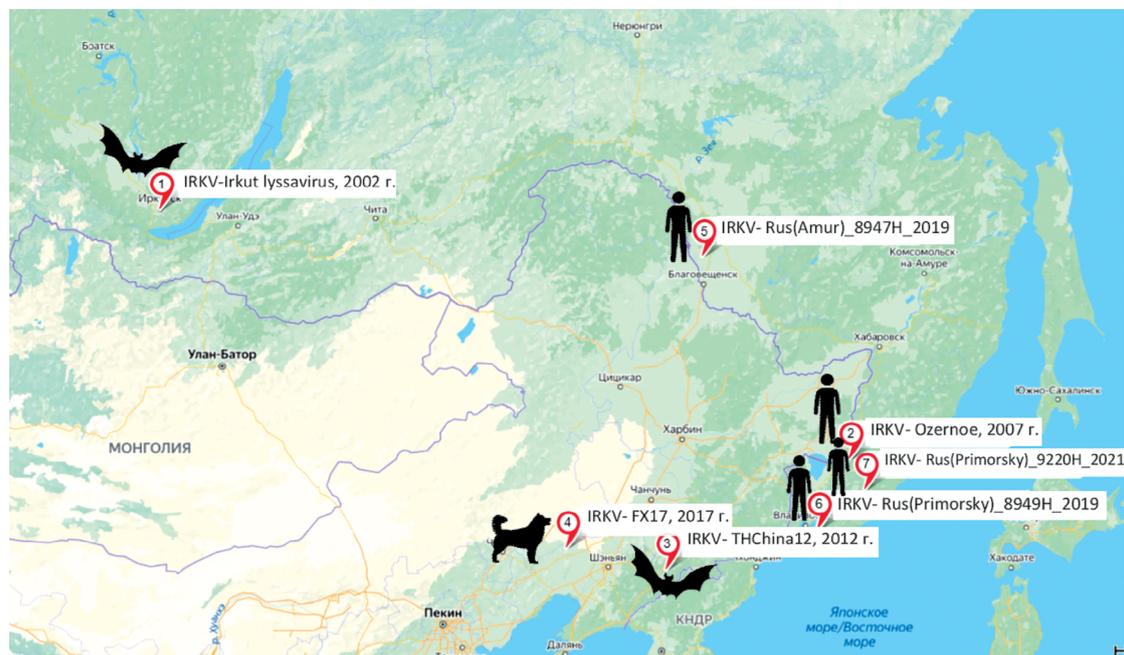


Рис. 4. Случаи выявления лиссавируса Иркут (IRKV) в хронологическом порядке: 2002 – Россия, Иркутск, большой трубконос; 2007 – Россия, Приморский край, Яковлевский район, с. Озёрное, человек; 2012 – Китай, провинция Гири, большой трубконос; 2017 – Китай, округ Фусинь, домашняя собака; 2019 – Россия, Благовещенск, Амурская область, человек; 2019 – Россия, Приморский край, ГО ЗАТО Фокино, человек; 2021 – Россия, Приморский край, Чугуевский район, с. Заветное, человек.

Fig. 4. Cases of detection of Irkut lyssavirus (IRKV) in chronological order: 2002 – Russia, Irkutsk, Bat; 2007 – Russia, Primorsky Krai, Yakovlevsky district, Ozernoye village, human; 2012 – China, Jilin province, Bat; 2017 – China, Fuxin County, domestic dog; 2019 – Russia, Amur Region, Blagoveshchensk, human; 2019 – Russia, Primorsky Territory, Fokino, human; 2021 – Russia, Primorsky Krai, Chuguevsky district, Zavetnoye village, human.

Юг Дальнего Востока характеризуется активностью южно-дальневосточного природно-очагового региона [40], где лиссавирус бешенства циркулирует в популяциях лисиц и енотовидных собак. Периодически в эпизоотический процесс вовлекаются волки. В различные периоды эпизоотий регистрируют 40–60% случаев бешенства у домашних собак [20, 21].

За последние 20 лет на Дальнем Востоке зарегистрировали 11 случаев гибели людей от энцефалита лиссавирусной этиологии. Источниками лиссавируса бешенства в 3 случаях были домашние собаки, в 4 – дикие хищники (лисица – 3 случая, волк – 1) [20]. Рукокрылые являлись источником лиссавируса Иркут ещё в 4 случаях [28], в том числе описанных в данной работе.

Первоначально лиссавирус Иркут был выявлен у большого трубконоса (*Murina leucogaster*) в Иркутске в 2002 г. [23]. В 2007 г. была зафиксирована гибель человека от этого лиссавируса в с. Озёрное Приморского края [28] (рис. 4).

Изучаемый возбудитель обнаружен не только на территории России. В 2012 г. лиссавирус Иркут был выделен от большого трубконоса в провинции Гири (Цзилинь) в центре Северо-Восточного Китая [38]. Повторное обнаружение возбудителя у того же вида рукокрылых может указывать на его видоспецифичность. Через несколько лет, в 2017 г., в Китае в округе Фусинь вирус Иркут был выявлен у павшей домашней собаки, укусившей человека [41]. Это первое свиде-

тельство вероятной передачи вируса летучих мышей Иркут наземным плотоядным, а через них – человеку.

Анализ идентичности с помощью программы BLASTN и филогенетический анализ продемонстрировали, что полученные последовательности выявленных в 2019 и 2021 гг. вирусов Rus(Amur) 8947H_2019, Rus(Primorsky)8949H_2019 и вирус Rus(Primorsky) 9220H_2021 кластеризуются с лиссавирусами IRKV и идентичны представителям вида более чем на 90%. Известно, что порог идентичности нуклеотидов *N*-гена, обеспечивающий однозначное разделение всех лиссавирусов на виды, составляет 82% [42]. Идентичность с другими видами (EBLV-1 и RABV) составляла от 79,28 до 76,75%, что указывает на то, что выявленные вирусы относятся к виду IRKV.

Анализ филогенетических отношений, выполненный в программе MEGA7 для последовательностей фрагмента гена *N* всех известных видов лиссавирусов из GenBank (1258 н.о., $n = 51$), установил, что вирусы, вызывавшие гибель людей в Амурской области и Приморском крае, образуют отдельный монофилетический кластер с лиссавирусами Иркут, бутстреп-поддержка которого составляет 100% (рис. 3).

Все вирусы IRKV, несмотря на то что были выявлены в относительно отдалённых географических местах, очень близки (рис. 3, 4). Известно минимум три случая гибели людей от бешенства, связан-

ные с летучими мышами на северо-востоке Китая: в округе Тунгхуа в 1990-х гг. и в 2002 г. и в городе Лунцзин в 2010 г. Эти случаи были диагностированы только клинически, без лабораторного подтверждения. Видовая принадлежность рукокрылых, послуживших источниками гибели людей, не была установлена. Относительно редко сообщалось о случаях нападения летучих мышей на людей [38]. Ранее в Азии было зарегистрировано несколько неохарактеризованных случаев лиссавирусной инфекции у рукокрылых [11]. В 1967 г. в Таиланде антигены лиссавируса выявили у двух малайских коротконосых крыланов (*Cynopterus brachyotis*) методом флуоресцирующих антител [43]. В 1978 г. лиссавирус был обнаружен у сероголовой летучей лисицы (*Pteropus poliocephalus*) в Индии [44]. Эти данные указывают на возможность более широкого распространения лиссавируса Иркут. Он может быть распространён по всему ареалу большого трубконоса, в том числе в Сибири и на Дальнем Востоке. В циркуляцию патогена могут быть вовлечены другие виды рукокрылых.

На данном этапе нами показана перспективность использования молекулярно-генетических методов для детекции представителей рода *Lyssavirus*, не относящихся к классическому лиссавирусу бешенства, актуальность их использования для расшифровки случаев гибели людей от энцефалитов неясной этиологии, определены диагностические возможности ПЦР-тест-систем отечественного производства. Успешное выявление лиссавирусов неклассического бешенства с помощью одного из отечественных диагностикумов – случай исключительный, так как доступные отечественные ПЦР-тест-системы сконструированы специфичными для выявления классического лиссавируса бешенства.

Так, использованная для диагностики ПЦР-тест-система от ООО «Синтол» была разработана для выявления специфической РНК лиссавируса классического бешенства путём детекции двух участков генома: участка, кодирующего ген нуклеопротеина (*N*), и участка, кодирующего ген РНК-зависимой РНК-полимеразы (*L*). Все классические вирусы бешенства в данной системе детектировались по каналу, выявляющему фрагменты нуклеопротеина. Специфические фрагменты РНК лиссавирусов от погибших после укусов летучих мышей были выявлены только по каналу детекции гена *L*, а их участок нуклеопротеина данной тест-системой не детектировался. Исходя из этого, мы предположили, что тест-система ООО «Синтол» выявила другой лиссавирус, не относящийся к классическому лиссавирусу бешенства, возможно, относящийся к филогруппе I (см. ниже). При этом другая система, разработанная для детекции участка нуклеопротеина классического вируса бешенства, распространённого в России, не зарегистрировала указанные вирусы, продемонстрировав отсутствие их специфичности для выявления данного патогена.

В ходе вирусологического изучения вирусы были выделены в биопробе на беспородных белых мы-

шах, а их специфичность была подтверждена методом флуоресцирующих антител с поликлональным антирабическим иммуноглобулином. Такая возможность имеется благодаря тому, что ген *N* является высококонсервативным, индуцирует формирование перекрёстно реагирующих и комплементсвязывающих антител, а лиссавирусы разных видов показывают широкую антигенную перекрёстную активность на уровне детекции антигена *N*-белка [3]. Это позволяет стандартным диагностическим методам, направленным на детекцию нуклеопротеина (например, методом флуоресцирующих антител), путём реакции с поликлональным антирабическим иммуноглобулином, используя одинаковые диагностикумы, обнаруживать все лиссавирусы без видовых различий.

В соответствии с генетическими расстояниями и серологической перекрёстной активностью лиссавирусы делятся как минимум на три филогруппы. Филогруппу 1 составляют RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, ARAV, KHUV, IRKV, BBLV, GBLV, TWBLV, KBLV. Филогруппу 2 составляют LBV, MOKV, SHIBV. Остальные виды – WCBV, IKOV и LLEBV – не могут быть включены ни в одну из этих филогрупп. В пределах каждой филогруппы наблюдается относительная консервативность гликопротеиновых антигенов, индуцирующих синтез вируснейтрализующих антител, обеспечивающих противовирусный иммунитет (идентичность аминокислот в эктодомене > 74%). Перекрёстная нейтрализация между лиссавирусами разных филогрупп отсутствует (идентичность аминокислот в эктодомене < 62%). В результате коммерчески доступные вакцины и иммуноглобулины против бешенства, сконструированные на основе штаммов классического вируса, в основном индуцируют иммунную защиту от лиссавирусов филогруппы I, но не от других лиссавирусов [7].

Лиссавирус Иркут относится к филогруппе I [7], и имеющиеся антирабические препараты должны от него защищать. Однако результаты экспериментальных данных американских и китайских исследователей показали, что коммерческие биопрепараты от бешенства не обеспечивают 100%-й защиты от инфекции, вызванной IRKV, столь же надёжной, как защита от заражения классическим лиссавирусом бешенства [45–47].

Заключение

1. За период 1977–2021 гг. в России гибель людей от укусов летучих мышей была зафиксирована семь раз: два – Луганская Народная Республика РФ, Луганск (Ворошиловград) и Молодогвардейск; один – Белгородская область, Белгород; один – Амурская область, Благовещенск; три – Приморский край, с. Озерное, г. Фокино, с. Заветное.

2. Из циркулирующих на территории России четырёх видов лиссавирусов – *Lyssavirus rabies*, *Lyssavirus hamburg*, *Lyssavirus irkut*, *Lyssavirus caucasicus* – представители первых трёх являлись

причиной гибели людей, три последних выделялись от летучих мышей.

3. Выявление случаев гибели людей от лиссавирусной инфекции на юге Дальневосточного региона указывает на недостаточную оценку роли рукокрылых в эпидемиологии этой инфекции в России, а также на возможность гиподиагностики лиссавирусной инфекции после контактов с этими животными.

4. На территории России актуален мониторинг популяций летучих мышей на заражённость лиссавирусами, при планировании которого необходимо принимать во внимание факты обнаружения лиссавируса Иркут в России и Китае у большого трубконоса, указывающие на возможную видоспецифичность патогена.

5. Органы санэпиднадзора и здравоохранения должны быть осведомлены о потенциале рукокрылых в передаче лиссавирусов. Учитывая большое видовое разнообразие летучих мышей и стремительный рост открытия новых видов лиссавирусов, ни один регион России нельзя считать свободным от этих возбудителей.

6. Ввиду сложности клинической диагностики этиологии энцефалита, связанного с лиссавирусами, отличными от классического лиссавируса бешенства, необходимо исследование секционного материала погибших от энцефаломиелита неустановленной этиологии в пределах 10–15 дней от начала болезни на выявление лиссавирусного патогена.

7. Отечественные коммерческие диагностические препараты для метода флуоресцирующих антител позволяют выявлять антиген лиссавируса Иркут. Отечественная ПЦР-тест-система от ООО «Синтол», видимо, позволяет детектировать лиссавирус Иркут, но необходима разработка диагностикумов, включающих родоспецифичные праймеры. Применение молекулярно-биологических методов представляется перспективным в плане развития диагностики бешенства для совершенствования эпидемиологического надзора и повышения эффективности системы биологической защиты населения Российской Федерации.

8. Принадлежность к вирусу Иркут выявленных патогенов свидетельствует о том, что отечественные вакцины, присутствующие на рынке, должны защищать от этого возбудителя. Тем не менее оценка существующих иммунобиологических препаратов относительно вируса Иркут и необходимость разработки новых являются актуальной задачей.

9. Обобщение данных по выявлению лиссавируса Иркут и установленные факты его передачи в популяции собак актуализируют необходимость вакцинации домашних животных с целью предотвращения их возможного заражения этим возбудителем.

10. Необходимо обязательное усиление санпросветработы с целью предотвращения контактов населения с бешеными животными, в том числе летучими мышами, а также стимулирования своевременного обращения за медицинской помощью после укусов животными. Травмы, нанесённые рукокрылыми, требуют обязательной регистрации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грибенча С.В., Львов Д.К. Бешенство. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии*. М.: МИА; 2013: 811–6.
2. Ботвинкин А.Д. Бешенство. В кн.: Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И., ред. *Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Том 2*. М.: МИА; 2019: 199–223.
3. Virus Taxonomy. The ICTV Report on Virus Classification and Taxon Nomenclature. Subfamily: Alpharhabdovirinae. Genus: Lyssavirus. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-ssa-viruses/w/rhabdoviridae/795/genus-lyssavirus
4. Nokireki T., Tammiranta N., Kokkonen U.M., Kantala T., Gadd T. Tentative novel lyssavirus in a bat in Finland. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65(3): 593–6. <https://doi.org/10.1111/tbed.12833596>
5. Marston D.A., Horton D.L., Ngeleja C., Hampson K., McElhinney L.M., Banyard A.C., et al. Ikoma lyssavirus, highly divergent novel lyssavirus in an African civet. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4): 664–7. <https://doi.org/10.3201/eid1804.111553>
6. Coertse J., Markotter W., le Roux K., Stewart D., Sabeta C.T., Nel L.H. New isolations of the rabies-related Mokola virus from South Africa. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1): 37. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0948-0>
7. WHO expert consultation on rabies: third report. Geneva; 2018. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>
8. Banyard A.C., Hayman D., Johnson N., McElhinney L., Fooks A.R. Bats and lyssaviruses. *Adv. Virus. Res.* 2011; 79: 239–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00012-3>
9. Banyard A.C., Evans J.S., Luo T.R., Fooks A.R. Lyssaviruses and bats: emergence and zoonotic threat. *Viruses.* 2014; 6(8): 2974–90. <https://doi.org/10.3390/v6082974>
10. Rupprecht C., Kuzmin I., Meslin F. Lyssaviruses and rabies: current conundrums, concerns, contradictions and controversies. *F1000Res.* 2017; 6: 184. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10416.1>
11. Markotter W., Coertse J. Bat lyssaviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2): 385–400. <https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2809>
12. Shipley R., Wright E., Selden D., Wu G., Aegerter J., Fooks A.R., et al. Bats and viruses: emergence of novel lyssaviruses and association of bats with viral zoonoses in the EU. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2019; 4(1): 31. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4010031>
13. Regnault B., Evrard B., Plu I., Dacheux L., Troade E., Cozette P., et al. First Case of Lethal Encephalitis in Western Europe Due to European Bat Lyssavirus Type 1. *Clin. Infect. Dis.* 2022; 74(3): 461–6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab443>
14. Fooks A.R., Cliquet F., Finke S., Freuling C., Hemachudha T., Mani R.S., et al. Rabies. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2017; 3: 17091. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.91>
15. Kuzmin I.V., Botvinkina A.D., McElhinney L.M., Smith S.S., Orciari L.A., Hughes G.J., et al. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildlife Dis.* 2004; 40(4): 617–31. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.4.617>
16. Deviatkin A.A., Lukashov A.N., Poleshchuk E.M., Dedkov V.G., Tkachev S.E., Sidorov G.N., et al. The phylodynamics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS One.* 2017; 12(2): e0171855. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171855>
17. Сидоров Г.Н. Аспекты исторического развития природных очагов бешенства в Европе и Северной Азии. *Ветеринарная патология.* 2002; (1): 21–5.
18. Сидоров Г.Н., Сидорова Д.Г., Полещук Е.М. Бешенство диких млекопитающих на территории России в конце 20 – начале 21 веков. *Зоологический журнал.* 2010; 89(1): 26–36.
19. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Грибенча С.В. Итоги изучения антигенного и генетического разнообразия вируса бешенства в популяциях наземных млекопитающих России. *Вопросы вирусологии.* 2013; 58(3): 9–16.
20. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Нашатырева Д.Н., Градобоева Е.А., Пакскина Н.Д., Попова И.В. *Бешенство в Российской Федерации: Информационно-аналитический бюллетень*. Омск; 2019.
21. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; (4): 16–25. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-4-16-25>
22. Полещук Е.М., Кузьмин И.В., Газарян С.В., Ботвинкин А.Д. Западно-кавказский лиссавирус рукокрылых: отсутствие вакцинационной защиты. *Plecotus et al.* 2003; (6): 67–71.

23. Botvinkin A.D., Poleschuk E.M., Kuzmin I.V., Borisova T.I., Gazaryan S.V., Yager P., et al. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9(12): 1623–5. <https://doi.org/10.3201/eid0912.030374>
24. Сидоров Г.Н., Поleshuk E.M., Сидорова Д.Г. Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16–21 веках. *Зоологический журнал.* 2019; 98(4): 437–52. <https://doi.org/10.1134/S0044513419040159>
25. Botvinkin A.D., Kuzmin I.V., McElhinney L.M., Johnson N., Fooks A.R. The diversity of rabies virus in Russia demonstrated by anti-nucleocapsid monoclonal antibody application and limited gene sequencing. *Dev. Biol. (Basel).* 2006; 125: 79–90.
26. Градобоева Е.А., Поleshuk E.M., Сидоров Г.Н., Штрек С.В. К вопросу применения молекулярно-генетических методов в диагностике и эпидемиологическом расследовании случаев бешенства у людей. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2019; (37): 37–8.
27. Selimov M.A., Tatarov A.G., Botvinkin A.D., Klueva E.V., Kulikova L.G., Khismatullina N.A. Rabies-related Yuli virus; identification with a panel of monoclonal antibodies. *Acta Virol.* 1989; 33(6): 542–6.
28. Leonova G.N., Somova L.M., Belikov S.I., Kondratov I.G., Plekhova N.G., Krylova N.V., et al. The fatal case of lyssavirus encephalitis in the Russian Far East. In: Tkachev S.E., ed. *Encephalitis*. Croatia: In Tech; 2012: 231–50. <https://doi.org/10.5772/52869>
29. Щербак Ю.Н. Вирусологические исследования по проблеме бешенства в Украинской ССР. В кн.: *Вирусы и вирусные заболевания*. Киев: Здоровье; 1984: 11–6.
30. Botvinkin A.D., Selnikova O.P., Antonova L.A., Moiseeva A.B., Nesterenko E.Yu. Human rabies case caused from a bat bite in Ukraine. *Rabies Bulletin Europe.* 2005; 29(3): 5–7.
31. Coertse J., Grobler C.S., Sabetta C.T., Seemark E., Kearney T., Paweska J.T., et al. Lyssaviruses in insectivorous bats, South Africa, 2003–2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(12): 3056–60. <https://doi.org/10.3201/eid2612.203592>
32. Grobler C.S., Coertse J., Markotter W. Complete genome sequence of Matlo bat lyssavirus. *Microbiol. Resour. Announc.* 2021; 10(20): e0024121. <https://doi.org/10.1128/MRA.00241-21>
33. Dean D.J., Abelseth M.K., Atanasiu P. The fluorescent antibody test. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 88–93.
34. Koprowski H. The mouse inoculation test. Laboratory techniques in rabies. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 80–6.
35. Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38286>
36. Tordo N., Sacramento D., Bourhy H. The polymerase chain reaction (PCR) technique for diagnosis, typing and epidemiological studies of rabies. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 157–74.
37. Heaton P.R., Johnstone P., McElhinney L.M., Cowley R., O’Sullivan E., Whitby J.E. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(11): 2762–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2762-2766.1997>
38. Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Hu R. Isolation of Irkut virus from a Murina leucogaster bat in China. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(3): e2097. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002097>
39. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
40. Ботвинкин А.Д., Сидоров Г.Н. Природные очаги бешенства в РСФСР и на сопредельных территориях. В кн.: *Материалы 5 объединенного съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и инфекционистов Казахстана*. Алма-Ата; 1991: 95–8.
41. Chen T., Miao F.M., Liu Y., Zhang S.F., Zhang F., Li N., et al. Possible transmission of Irkut virus from dogs to humans. *Biomed. Environ. Sci.* 2018; 31(2): 146–8. <https://doi.org/10.3967/bes2018.017>
42. Kuzmin I.V., Hughes G.J., Botvinkin A.D., Orciari L.A., Rupprecht C.E. Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the Lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition. *Virus Res.* 2005; 111(1): 28–43. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.008>
43. Smith P.C., Lawhaswasdi K., Vick W.E., Stanton J.S. Isolation of rabies virus from fruit bats in Thailand. *Nature.* 1967; 216(5113): 384. <https://doi.org/10.1038/216384a0>
44. Pal S.R., Arora B., Chhuttani P.N., Broor S., Choudhury S., Joshi R.M., et al. Rabies virus infection of a flying fox bat, *Pteropus poliocephalus* in Chandigarh, Northern India. *Trop. Geogr. Med.* 1980; 32(3): 2657.
45. Hanlon C.A., Kuzmin I.V., Blanton J.D., Weldon W.C., Manangan J.S., Rupprecht C.E. Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia. *Virus Res.* 2005; 111(1): 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.009>
46. Liu Y., Li N., Zhang S., Zhang F., Lian H., Wang Y., et al. Analysis of the complete genome of the first Irkut virus isolate from China: comparison across the Lyssavirus genus. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013; 69(3): 687–93. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.008>
47. Liu Y., Chen Q., Zhang F., Zhang S., Li N., Lian H., et al. Evaluation of rabies biologics against Irkut virus isolated in China. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(11): 3499–504. <https://doi.org/10.1128/JCM.01565-13>

REFERENCES

- Gribencha S.V., L’vov D.K. Rabies. In: L’vov D.K., ed. *Virology Manual [Rukovodstvo po virusologii]*. Moscow: MIA; 2013: 811–6. (in Russian)
- Botvinkin A.D. Rabies. In: Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovskiy V.I., eds. *Guide to the Epidemiology of Infectious Diseases. Volume 2 [Rukovodstvo po epidemiologii infeksionnykh bolezney. Tom 2]*. Moscow: MIA; 2019: 199–223. (in Russian)
- Virus Taxonomy. The ICTV Report on Virus Classification and Taxon Nomenclature. Subfamily: Alpharhabdovirinae. Genus: Lyssavirus. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv-online_report/negative-sense-rna-viruses/w/rhabdoviridae/795/genus-lyssavirus
- Nokireki T., Tammiranta N., Kokkonen U.M., Kantala T., Gadd T. Tentative novel lyssavirus in a bat in Finland. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65(3): 593–6. <https://doi.org/10.1111/tbed.12833596>
- Marston D.A., Horton D.L., Ngeleja C., Hampson K., McElhinney L.M., Banyard A.C., et al. Ikoma lyssavirus, highly divergent novel lyssavirus in an African civet. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4): 664–7. <https://doi.org/10.3201/eid1804.111553>
- Coertse J., Markotter W., le Roux K., Stewart D., Sabetta C.T., Nel L.H. New isolations of the rabies-related Mokola virus from South Africa. *BMC Vet. Res.* 2017; 13(1): 37. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-0948-0>
- WHO expert consultation on rabies: third report. Geneva; 2018. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>
- Banyard A.C., Hayman D., Johnson N., McElhinney L., Fooks A.R. Bats and lyssaviruses. *Adv. Virus Res.* 2011; 79: 239–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00012-3>
- Banyard A.C., Evans J.S., Luo T.R., Fooks A.R. Lyssaviruses and bats: emergence and zoonotic threat. *Viruses.* 2014; 6(8): 2974–90. <https://doi.org/10.3390/v6082974>
- Rupprecht C., Kuzmin I., Meslin F. Lyssaviruses and rabies: current conundrums, concerns, contradictions and controversies. *F1000Res.* 2017; 6: 184. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10416.1>
- Markotter W., Coertse J. Bat lyssaviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2): 385–400. <https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2809>
- Shiple R., Wright E., Selden D., Wu G., Aegerter J., Fooks A.R., et al. Bats and viruses: emergence of novel lyssaviruses and association of bats with viral zoonoses in the EU. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2019; 4(1): 31. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4010031>
- Regnault B., Evrard B., Plu I., Dacheux L., Troadec E., Cozette P., et al. First Case of Lethal Encephalitis in Western Europe Due to European Bat Lyssavirus Type 1. *Clin. Infect. Dis.* 2022; 74(3): 461–6. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab443>
- Fooks A.R., Cliquet F., Finke S., Freuling C., Hemachudha T., Mani R.S., et al. Rabies. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2017; 3: 17091. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.91>
- Kuzmin I.V., Botvinkin A.D., McElhinney L.M., Smith S.S., Orciari L.A., Hughes G.J., et al. Molecular epidemiology of terrestrial rabies in the former Soviet Union. *J. Wildlife Dis.* 2004; 40(4): 617–31. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.4.617>
- Deviatkin A.A., Lukashev A.N., Poleschuk E.M., Dedkov V.G., Tkachev S.E., Sidorov G.N., et al. The phylodynamics of the rabies

- virus in the Russian Federation. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171855. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171855>
17. Sidorov G.N. Aspects of the historical development of natural foci of rabies in Europe and North Asia. *Veterinarnaya patologiya*. 2002; (1): 21–5. (in Russian)
 18. Sidorov G.N., Sidorova D.G., Poleshchuk E.M. Rabies of wild mammals in Russia in the late 20th – early 21st centuries. *Zoologicheskii zhurnal*. 2010; 89(1): 26–36. (in Russian)
 19. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Gribencha S.V. A summary of the data about antigenic and genetic diversity of rabies virus circulating in the terrestrial mammals in Russia. *Voprosy virusologii*. 2013; 58(3): 9–16. (in Russian)
 20. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Nashatyreva D.N., Gradoboeva E.A., Paksina N.D., Popova I.V. Rabies in the Russian Federation: INFORMATIONAL and Analytical Bulletin [Beshestvo v Rossiyskoy Federatsii: Informatsionno-analiticheskiy byulleten']. Omsk; 2019. (in Russian)
 21. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. Comparative analysis of features of epizootiological and epidemic situation and risk of rabies infection in the Russian Federation in early XXI century. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; (4): 16–25. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-4-16-25> (in Russian)
 22. Poleshchuk E.M., Kuz'min I.V., Gazaryan S.V., Botvinkin A.D. West Caucasian lyssavirus of bats: lack of vaccine protection. *Plecotus et al.* 2003; (6): 67–71. (in Russian)
 23. Botvinkin A.D., Poleshchuk E.M., Kuzmin I.V., Borisova T.I., Gazaryan S.V., Yager P., et al. Novel lyssaviruses isolated from bats in Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9(12): 1623–5. <https://doi.org/10.3201/eid0912.030374>
 24. Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. Changes in the role of mammals in human hydrophobia infection in Russia for a historically graspable period of the 16th to 21st centuries. *Zoologicheskii zhurnal*. 2019; 98(4): 437–52. <https://doi.org/10.1134/S0044513419040159> (in Russian)
 25. Botvinkin A.D., Kuzmin I.V., McElhinney L.M., Johnson N., Fooks A.R. The diversity of rabies virus in Russia demonstrated by anti-nucleocapsid monoclonal antibody application and limited gene sequencing. *Dev. Biol. (Basel)*. 2006; 125: 79–90.
 26. Gradoboeva E.A., Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Shtrek S.V. To the problem of the application of molecular genetic methods in the diagnosis and epidemiological investigation of human rabies cases. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2019; (37): 37–8. (in Russian)
 27. Selimov M.A., Tatarov A.G., Botvinkin A.D., Klueva E.V., Kulikova L.G., Khismatullina N.A. Rabies-related Yuli virus; identification with a panel of monoclonal antibodies. *Acta Virol.* 1989; 33(6): 542–6.
 28. Leonova G.N., Somova L.M., Belikov S.I., Kondratov I.G., Plekhova N.G., Krylova N.V., et al. The fatal case of lyssavirus encephalitis in the Russian Far East. In: Tkachev S.E., ed. *Encephalitis*. Croatia: In Tech; 2012: 231–50. <https://doi.org/10.5772/52869>
 29. Shcherbak Yu.N. Virology researches on the rabies problem in the Ukrainian SSR. In: *Viruses and Viral Diseases [Virusy i virusnye zabolovaniya]*. Kiev: Zdorov'e; 1984: 11–6. (in Russian)
 30. Botvinkin A.D., Selnikova O.P., Antonova L.A., Moiseeva A.B., Nesterenko E.Yu. Human rabies case caused from a bat bite in Ukraine. *Rabies Bulletin Europe*. 2005; 29(3): 5–7.
 31. Coertse J., Grobler C.S., Sabeta C.T., Seemark E., Kearney T., Paweska J.T., et al. Lyssaviruses in insectivorous bats, South Africa, 2003–2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(12): 3056–60. <https://doi.org/10.3201/eid2612.203592>
 32. Grobler C.S., Coertse J., Markotter W. Complete genome sequence of Matlo bat lyssavirus. *Microbiol. Resour. Announc.* 2021; 10(20): e0024121. <https://doi.org/10.1128/MRA.00241-21>
 33. Dean D.J., Abelseth M.K., Atanasiu P. The fluorescent antibody test. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 88–93.
 34. Koprowski H. The mouse inoculation test. Laboratory techniques in rabies. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 80–6.
 35. Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38286>
 36. Tordo N., Sacramento D., Bourhy H. The polymerase chain reaction (PCR) technique for diagnosis, typing and epidemiological studies of rabies. In: Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H., eds. *Laboratory Techniques in Rabies*. Geneva: WHO; 1996: 157–74.
 37. Heaton P.R., Johnstone P., McElhinney L.M., Cowley R., O'Sullivan E., Whitby J.E. Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35(11): 2762–6. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2762-2766.1997>
 38. Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Hu R. Isolation of Irkut virus from a Murina leucogaster bat in China. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(3): e2097. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002097>
 39. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
 40. Botvinkin A.D., Sidorov G.N. Natural foci of rabies in the RSFSR and adjacent territories. In: *Materials of the 5th Joint Congress of Hygienists, Epidemiologists, Microbiologists, Parasitologists and Infectious Disease Specialists of Kazakhstan [Materialy 5 ob'edinenennogo s'ezda gigienistov, epidemiologov, mikrobiologov, parazitologov i infektsionistov Kazakhstana]*. Alma-Ata; 1991: 95–8. (in Russian)
 41. Chen T., Miao F.M., Liu Y., Zhang S.F., Zhang F., Li N., et al. Possible transmission of Irkut virus from dogs to humans. *Biomed. Environ. Sci.* 2018; 31(2): 146–8. <https://doi.org/10.3967/bes2018.017>
 42. Kuzmin I.V., Hughes G.J., Botvinkin A.D., Orciari L.A., Rupprecht C.E. Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within the Lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition. *Virus Res.* 2005; 111(1): 28–43. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.008>
 43. Smith P.C., Lawhaswasdi K., Vick W.E., Stanton J.S. Isolation of rabies virus from fruit bats in Thailand. *Nature*. 1967; 216(5113): 384. <https://doi.org/10.1038/216384a0>
 44. Pal S.R., Arora B., Chhuttani P.N., Broor S., Choudhury S., Joshi R.M., et al. Rabies virus infection of a flying fox bat, *Pteropus poliocephalus* in Chandigarh, Northern India. *Trop. Geogr. Med.* 1980; 32(3): 2657.
 45. Hanlon C.A., Kuzmin I.V., Blanton J.D., Weldon W.C., Manangan J.S., Rupprecht C.E. Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia. *Virus Res.* 2005; 111(1): 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.03.009>
 46. Liu Y., Li N., Zhang S., Zhang F., Lian H., Wang Y., et al. Analysis of the complete genome of the first Irkut virus isolate from China: comparison across the Lyssavirus genus. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013; 69(3): 687–93. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.008>
 47. Liu Y., Chen Q., Zhang F., Zhang S., Li N., Lian H., et al. Evaluation of rabies biologics against Irkut virus isolated in China. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(11): 3499–504. <https://doi.org/10.1128/JCM.01565-13>